

エボラウイルス制圧にむけて ～エボラワクチン開発研究と シエラレオネでの研究活動～

東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 ウイルス感染分野
渡辺 登喜子、河岡 義裕

1. はじめに

エボラ出血熱は、1976年にスーダンとコンゴ民主共和国（旧ザイール）で初めて確認されて以来、アフリカ諸国で散発的に発生している。2014年から2016年にかけて西アフリカの3カ国（ギニア、リベリア、シエラレオネ）において、エボラ出血熱の大規模な流行が発生し、28,600以上の感染者と、11,300人以上の犠牲者を出した。また、その後も散発的な報告が続き、最近では2018年に、コンゴ民主共和国において、エボラ出血熱のアウトブレイク宣言が出され、2019年10月現在も流行は続いている。これまでに3,298名の感染者が報告され、そのうち2,196名が犠牲となっている（2019年11月22日時点）。

今のところ、エボラ出血熱に対する効果的な治療法や予防法は確立されていない。本稿では、我々の研究室が取り組んでいるエボラワクチンの開発研究、およびシエラレオネにおける研究活動について述べる。

2. エボラ出血熱を起こす病原体

エボラ出血熱は、エボラウイルスの感染によって引き起こさ

れる急性熱性疾患であり、突然の発熱とともに、疼痛、脱力感等の様々な症状が出現する。その後、嘔吐、下痢、発疹、肝機能および腎機能の異常などの症状を呈し、さらに病気が悪化すると出血傾向が認められる（ただし出血症状を伴わない感染例も多く報告されているため、最近ではエボラ出血熱を「エボラウイルス病」と呼ぶことも多い）。その病原性は極めて高く、致死率50～90%を示すウイルス種もある。エボラウイルスのヒトへの感染は、感染した動物やヒトの血液・体液・嘔吐物・排泄物などと直接接触することによって起こる。また犠牲者の葬儀・埋葬の際に、会葬者が遺体に直接接触するという地域の伝統的な風習も、エボラウイルスの感染伝播に寄与する。

エボラウイルスは、mRNAと相補的な一本鎖RNAをゲノムとして持つエンベロープウイルスである。ウイルスRNAには、少なくとも8種類のウイルス蛋白質（NP、VP35、VP40、GP、sGP、VP30、VP24およびL）がコードされている（図1）。ウイルスの表面糖蛋白質であるGP

は、ウイルスと宿主細胞表面上の受容体との結合、およびウイルスエンベロープと宿主細胞膜との融合を担うとともに、中和抗体の主要な標的抗原でもある。そのためエボラワクチンの開発では、ワクチン接種者において、GPに対する中和抗体を効率よく誘導させることが重要な目標となっている。

3. エボラワクチンの開発研究

1) 西アフリカにおけるベクターワクチンの臨床試験

エボラウイルス発見からこの

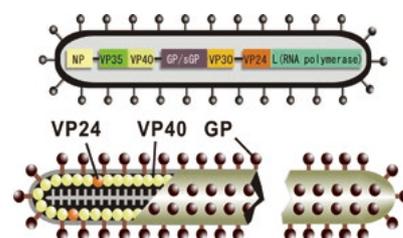


図1 エボラウイルスの構造
エボラウイルスのゲノムは、約19,000塩基からなるmRNAと相補的な一本鎖のRNAで、少なくとも8個のウイルス蛋白質（NP、VP35、VP40、GP、sGP、VP30、VP24およびL）をコードしている。ウイルスエンベロープには表面糖蛋白質GPが存在し、ウイルス粒子の内側はマトリックス蛋白質VP40が裏打ちしている。ウイルス粒子内部では、核蛋白質NP、VP30、VP35、およびポリメラーゼ蛋白質LがゲノムRNAと結合し、らせん状のヌクレオカプシドを形成する。

40年の間に様々なタイプのワクチンの開発研究が進められてきたが、その中でも、有望なエボラワクチン候補として期待されているのが、チンパンジー・アデノウイルス3型 (ChAd3) と水疱性口炎ウイルス (VSV) をベクターとして用いた2種類のベクターワクチン (それぞれ“ChAd3-ZEBOV”および“rVSV-ZEBOV”と呼ぶ) である [1-2]。2014～2016年の西アフリカにおけるアウトブレイク中に、これら2種類のベクターワクチンの臨床試験が実施された。

ChAd3-ZEBOVは、ウイルス蛋白質の合成を誘導する初期遺伝子であるE1領域を、エボラウイルスの表面糖蛋白質GPに置き換えており、E1蛋白質を発現する細胞株でのみ増えることができる。リベリアにおいて、ChAd3-ZEBOVワクチンを500名の成人に接種したところ、70.8%の接種者において抗体応答が認められた [3]。しかしながら、ChAd3-ZEBOVは免疫に大量のウイルスを必要とすることから、ワクチン製造の効率化が今後の課題となっている。

rVSV-ZEBOVは、VSVの表面糖蛋白質GをエボラウイルスGPに置き換えたリコンビナントウイルスである。このウイルスは、欠損させたVSV G蛋白質の働きを、エボラGPが補うことができるので、生体内で増殖することが可能である。ギニアでのエボラアウトブレイクの最中、1万人近くの被験者を用いて、

rVSV-ZEBOVワクチンの第Ⅲ相臨床試験が実施され、そのワクチン効果が確認された [4]。しかしながら、本ワクチンは生体内で増殖可能な生ウイルスであるため、関節炎や発熱などの副作用が80名で認められ、そのうち2名はワクチンが原因と判断された。本ワクチンは11月半ばに欧州連合で承認されたが、今後も安全性については注意深い検証が必要と思われる。

2) VP30欠損エボラウイルスワクチンの開発

我々の研究グループでは、効果的で安全なエボラワクチンを開発するため、エボラウイルスの増殖に必須の遺伝子VP30を欠損した変異エボラウイルス (以後、“エボラΔVP30ウイルス”と呼ぶ) を作出した [5]。このエボラΔVP30ウイルスは、通常の細胞では増えないが、VP30蛋白質を発現する人工細胞で効率良く増殖することができる (図2)。したがって、エボラΔVP30ウイルスは、特定の人工細胞でしか増えられないため安全である。また、上述のChAd3-ZEBOVとrVSV-ZEBOVがエボラウイルス由来の蛋白質をGPしか持っていないのに対して、エボラΔVP30ウイルスは、エボラウイルスを構成するほぼ全てのウイルス蛋白質を有するため、より高いワクチン効果が期待される。

エボラΔVP30ウイルスをワクチンとして使用し、ヒトに接種することを想定する場合、安全性に配慮して、生きているウイルスの毒性を弱めた生ワクチンではなく、その毒性を取り除い

た不活化ワクチンであることが望まれる。より安全なエボラウイルスワクチンを開発するため、我々は、過酸化水素水を用いて不活化したエボラΔVP30ウイルスのワクチン効果の評価試験を行った。不活化エボラΔVP30ウイルスワクチンを2回接種したサルに、致死量の野生型エボラウイルスを感染させたところ、ワクチン接種をしなかったグループのサルは全て死亡した。それに対して、過酸化水素水で不活化したエボラΔVP30ウイルスのワクチンを2回接種したグループのサルは全て生き残り、またエボラ出血熱の臨床症状も示さなかった (図3) [6]。

以上の結果から、過酸化水素水で不活化したエボラΔVP30ウイルスを免疫したサルは、エボラウイルス感染を防御することが分かった。さらに、通常ワクチン製造に用いられるβ-プロピオラクトンで不活化したウイルスにおいても、過酸化水素水で不活化したウイルスと同等のワクチン効果を確認した (未発表データ)。

3) エボラワクチン iEvac-Z のヒトにおける第Ⅰ相試験

本ウイルスワクチンの実用化を目指して、我々は、米国ワシントン大学の Waisman Biomanufacturing において、製造品質管理基準 (GMP; Good Manufacturing Practice) に準拠して、不活化エボラΔVP30ウイルスワクチン (以降、“iEvac-Z”と呼ぶ) を製造した。サルモデルを用いた非臨床試験によって、iEvac-Z ワクチンの有効性と安全性を確認した (未発表データ)。

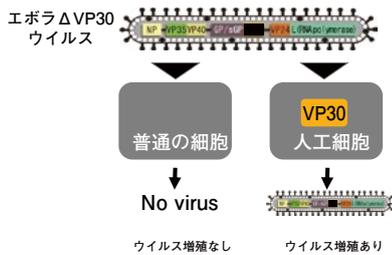


図2 増殖に必要な遺伝子VP30を欠損した変異ウイルス、エボラΔVP30ウイルス
安全性の高いエボラワクチンを開発するため、エボラウイルスの増殖に必要な遺伝子VP30を欠損した変異ウイルスを作製した。この変異ウイルスは、VP30蛋白質を発現する特定の細胞では増えるが、普通の細胞では増殖できない。

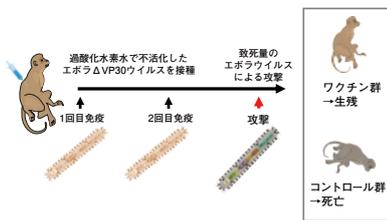


図3 サルにおけるエボラΔVP30ウイルスのワクチン効果試験
過酸化水素水で不活化したエボラΔVP30ウイルスを2回接種したサルを、致死量のエボラウイルスで攻撃したところ、エボラウイルスの感染を完全に防御した。

続いて我々は、ヒトにおけるワクチンの有効性と安全性を検証するために、令和1年度に東京大学医科学研究所附属病院において、本エボラワクチンの臨床研究を行うこととした。臨床研究実施に向けて、同附属病院のTR（トランスレーショナル・リサーチ）・治験センター（センター長：長村文孝教授）、および臨床研究責任医師である四柳宏教授らと調整を進め、臨床研究実施計画書等の臨床研究審査に必要な書類を作成した。本臨床研究の表題は「エボラワクチン iEvac-Z の安全性及び有効性評価のための第 I 相臨床試験」であり、本試験では、健康成人男性を対象として、iEvac-Z を 4 週間の間隔にて 2 回投与した際の

安全性と有効性（ワクチン効果）を評価する。2019年7月に東京大学認定臨床研究審査委員会へ書類を提出し、数回の審議を経て、9月末に本臨床研究の承認を得た。12月に本エボラワクチンのヒトへの初回投与を開始する予定である。これまで本ワクチン製剤のヒトへの投与例は国内外ともになく、本試験が First in Human の試験となる。

4. シエラレオネにおけるエボラウイルス研究

1) シエラレオネにおける共同研究の立ち上げ

シエラレオネ共和国は、西アフリカの西部、大西洋岸に位置しており、北にギニア、南東にリベリアと国境を接する。2013年12月にギニアで発生したエボラ出血熱は、2014年3月のギニアでの集団発生が引き金となり、住民の国境を越える移動により近隣諸国へと拡がり、都市部を巻き込んだ大規模な流行を引き起こした。2014年7月、エボラ出血熱は、人口100万人近くの首都フリータウンに侵入し、同年7月31日、シエラレオネ大統領は非常事態宣言を発し、それに続いて8月8日、WHOが「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態」を宣言した。2016年1月に終息宣言が出されるまで、エボラ出血熱は猛威を振るい続け、シエラレオネにおけるエボラウイルス感染者の数は14,124人にもものぼり、最も感染者の多い国となった（2016年3月13日のWHOの報告による）。

上記のような状況の中、我々は、シエラレオネ大学の Alhaji

N'jai 博士と Foday Sahr 博士の多大なる協力を得ながら、シエラレオネにおいて、共同研究体制を構築していった。2014年12月25日、我々は Alhaji N'jai 博士とともに、シエラレオネの首都フリータウンに赴いた。流行の最中であったため、人々の外出は規制されており、例年のクリスマスシーズンならば多くの人々でごった返すダウンタウンも人出は少なく、ゴーストタウンのような様相を呈していた。シエラレオネでは、エボラウイルス感染対策として、空港やホテルなどにおける体調や体温のチェックが常時行われ、建物内に入る際には、消毒液による手指の消毒が徹底されていた（図4）。また市内各所にも簡易検査所が設けられ、通行人や通過する車を止めて、体温チェックや消毒薬による手指の消毒を行っていた（図4）。

本共同研究について、シエラレオネ大学、シエラレオネ政府、ならびに WHO 関係者と協議を行った結果、シエラレオネ大学および関連医療機関からの協力を得ることができ、エボラ患者用の病棟を有する病院の一画にある実験室を貸与してもらえることとなった。2015年2月には、エボラウイルスを扱うための設備や機器類を実験室内に設置し、また、エボラウイルス感染サンプルの取り扱いに際し、Standard Operating Procedure（標準操作手順書；SOP）を作成し、安全に実験を遂行するための実験システムを確立することができた（図5）。

2) エボラ感染者における宿主応答解析

上記のように、実験システムを確立したのち、我々は、シエラレオネ大学および関連医療機関と連携して、感染の様々なステージ（感染初期・中期、死亡前、あるいは回復後）のエボラ感染者から血液サンプルを採取した。サンプルを採取した患者の総数は20名であり、そのうち生存者は11名であり、死亡者は9名だった。またコントロール群として、10名の非感染者からも血液サンプルを採取した。11名の生存者からは、1) 発症時、2) 第1回目の採血から5～7日後、3) 第2回目の採血から5～11日後、というように合計3回の経時的サンプリングを行なった。採取した血液サンプルから分離した血漿と末梢血単核球を用いて、プロテオーム（蛋白質）・メタボローム（代謝物）・リピドーム（脂質）・トランスクリプトーム（遺伝子）を包括的に調べるマルチオミックス解析を行なった（図6）^[7]。

プロテオーム解析の結果から、死亡者において、血漿中の腓分泌に関わる蛋白質（腓トリプシン、腓リパーゼなどの腓酵素）の発現量が多いことが分かり、エボラウイルス感染が腓臓障害を引き起こし、大量の腓酵素が血中に放出されることによって、他臓器の障害や血液凝固不全などの全身症状につながる可能性が示唆された。またトランスクリプトーム解析から、エボラ重症患者の体内で起こる組織障

害には、好中球によって誘起された免疫系の異常反応が関与する可能性が示され、エボラ出血熱の重症化メカニズムの一端が明らかとなった^[7]。さらに、メタボローム・リピドーム・プロテオーム解析の結果から、エボラウイルス感染後の生死と相関がある因子群を同定した。これらの因子はエボラ出血熱が重症化するかどうかを予測するバイオマーカーとなることが期待される。本研究から得られた知見は、今後のエボラ出血熱の流行発生時における公衆衛生対策に大きく貢献することが期待される。

5. おわりに

2014～2016年の西アフリカにおける大規模なアウトブレイクでは、欧米諸国でも、流行地から帰国した医療関係者を中心に、十数名の感染者が出ており、また日本でも感染者こそでなかったが数名の疑似患者が出た。各国間での人と物の往来が頻繁になっている現代社会においては、日本を含む諸外国にもエボラ出血熱が侵入する可能性は大いにあるため、エボラ出血熱問題は、早急に解決すべき国際的課題として取り組む必要がある。

上述の通り、我々の研究グループは、2019年12月に、東京大学医科学研究所附属病院にて、GMPに準拠して製造したエボラワクチン iEvac-Z のヒトにおける第I相試験を開始する。本試験の成果は、エボラウイルス感染症の制圧に向けて大きな一歩となるだろう。



図4 エボラ流行当時のシエラレオネの様子
a) シエラレオネのルンギ国際空港。ブリュッセルからの直行便が到着したところ。
b, c) 空港では、エボラウイルス感染対策として、Health Reportによる体調のチェックや検温が行われていた。
d, e, f) 市中各所で、体調や体温のチェックおよび消毒液による手指の消毒が常時行われていた。またエボラ患者の遺体には触れないようにと、注意を促すポスターが至る所に貼られていた。



図5 シエラレオネ大学および関連医療機関との共同研究
a) 我々は、2014年12月より、シエラレオネ大学および関連医療機関と共同研究を開始した。写真右から、共同研究者であるシエラレオネ大学のAlhaji N'jai博士とFoday Sahr博士、および米国ウイスコンシン大学のPeter Halfmann博士。左端が筆者（河岡）。
b) エボラ患者を収容する隔離病棟で働く、エボラ感染から回復した生存者の方々。自分のコミュニティから拒絶され、戻れない境遇の生存者が、エボラ病棟で働くというケースも多かった。
c, d, e) エボラ患者用の病棟を有する病院の一面にある実験室を貸与してもらい、エボラ患者から採取した血液サンプルの処理・解析を行っている。c) 実験室のある建物。d) 実験室内の様子。グローブアイソレーター内でサンプルを取り扱う筆者（渡辺）。e) サンプル採取や情報収集などの研究協力を行ってくれたラボテクニシャンの方々と我々の研究室から派遣された研究者。右端から一人目が福山聡特任准教授（当時）。右端から二人目が山下誠特任教授（当時）。後方列の左から三人目が前村忠特任研究員（当時、博士課程三年目の大学院生）。

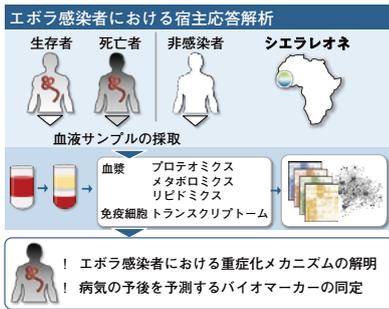


図6 エボラ感染者における宿主応答解析
シエラレオネにおいて、エボラ患者から採取した血液サンプルを用いて、トランスクリプトーム、メタボロミクス、リポドミクス、プロテオミクスなどのマルチオミクス解析を行なった。その結果、エボラウイルス感染後に死亡した患者において、酵素分泌や、好中球によって誘起された免疫系の異常反応が組織障害に関与することが示された。さらに重症患者において特異的な発現パターンを示す宿主因子が同定され、これらの因子は病気の帰結を評価しうるバイオマーカーとして有望であることが分かった。

引用文献

1. Jones, S. M., H. Feldmann, U. Stroher, J. B. Geisbert, L. Fernando, A. Grolla, H. D. Klenk, N. J. Sullivan, V. E. Volchkov, E. A. Fritz, K. M. Daddario, L. E. Hensley, P. B. Jahrling, and T. W. Geisbert. 2005. Live attenuated

recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nat Med* 11:786-90.
 2. Stanley, D. A., A. N. Honko, C. Asiedu, J. C. Trefry, A. W. Lau-Kilby, J. C. Johnson, L. Hensley, V. Ammendola, A. Abbate, F. Grazioli, K. E. Foulds, C. Cheng, L. Wang, M. M. Donaldson, S. Colloca, A. Folgori, M. Roederer, G. J. Nabel, J. Mascola, A. Nicosia, R. Cortese, R. A. Koup, and N. J. Sullivan. 2014. Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against ebolavirus challenge. *Nat Med* 20:1126-9.
 3. Kennedy SB, Bolay F, Kieh M, Grandits G, Badio M, Ballou R, Eckes R, Feinberg M, Follmann D, Grund B, Gupta S, Hensley L, Higgs E, Janosko K, Johnson M, Kateh F, Logue J, Marchand J, Monath T, Nason M, Nyenswah T, Roman F, Stavale E, Wolfson J, Neaton JD, Lane HC; PREVAIL I Study Group. 2017. Phase 2 Placebo-Controlled Trial of Two Vaccines to Prevent Ebola in Liberia. *N Engl J Med* 377, 1438-1447.
 4. Henao-Restrepo AM, Camacho A, Longini IM, Watson CH, Edmunds WJ, Egger M, Carroll MW, Dean NE, Diatta I, Doumbia M, Drugeuz B, Duraffour S, Enwere G, Grais R, Gunther S, Gsell PS, Hossmann S, Watle SV, Konde MK, Keita S, Kone S, Kuisma E, Levine MM, Mandal S, Maugeat T, Norheim G, Riveros X, Soumah A, Trelle S, Vicari AS, Rottingen JA, Kieny MP. 2017.

Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine in preventing Ebola virus disease: final results from the Guinea ring vaccination, open-label, cluster-randomised trial (Ebola Ca Suffit). *Lancet* 389, 505-518.
 5. Halfmann, P., J. H. Kim, H. Ebihara, T. Noda, G. Neumann, H. Feldmann, and Y. Kawaoka. 2008. Generation of biologically contained Ebola viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:1129-33.
 6. Marzi, A., P. Halfmann, L. Hill-Batorski, F. Feldmann, W. L. Shupert, G. Neumann, H. Feldmann, and Y. Kawaoka. 2015. Vaccines. An Ebola whole-virus vaccine is protective in nonhuman primates. *Science* 348:439-42.
 7. Eisfeld AJ, Halfmann PJ, Wendler JP, Kyle JE, Burnum-Johnson KE, Peralta Z, Maemura T, Walters KB, Watanabe T, Fukuyama S, Yamashita M, Jacobs JM, Kim YM, Casey CP, Stratton KG, Webb-Robertson BM, Gritsenko MA, Monroe ME, Weitz KK, Shukla AK, Tian M, Neumann G, Reed JL, van Bakel H, Metz TO, Smith RD, Waters KM, N'jai A, Sahr F, Kawaoka Y. 2017. Multi-platform 'Omics Analysis of Human Ebola Virus Disease Pathogenesis. *Cell Host Microbe*. 22:817-829.

(日動協ホームページ、LABIO21カラーの資料の欄を参照)

洗練された技術 理想への貢献

動物実験導入教育訓練用マウスシミュレータ
Mimicky Mouse

製品内容 ボディ：1体/尾1本
 付属品：専用潤滑剤1本/ペーパーパウダー 1本

三協ラボサービス株式会社
SANKYO LABO SERVICE CORPORATION, INC.

本社 東京都江戸川区西一之江2-13-16
本社営業部 TEL. 03-3656-5559 FAX. 03-3656-5599 skl-tokyo@sankyolabo.co.jp
北陸営業所 TEL. 076-425-8021 FAX. 076-491-1107 skl-hokuriku@sankyolabo.co.jp
札幌営業所 TEL. 011-881-9131 FAX. 011-883-1176 skl-sapporo@sankyolabo.co.jp
つくばラボ TEL. 029-829-3555 FAX. 029-862-5555 skl-tsukuba_lab@sankeyolabo.co.jp

販売 ●実験用動物 ●関連商品 ●実験動物輸送
飼育受託 ●実験動物全般の飼育管理業務(オープンシステム・バリアシステム・アイソレータシステム等) ●飼育施設環境管理(洗浄業務から各種環境測定まで) ●実験支援・代行 ●各第三者認証への対応
技術受託 ●遺伝子組換え動物の維持・繁殖 ●無菌動物の作出・維持 ●実験受託(非GLP) ●施設クリーンアップ

最新、
詳しい情報は
こちらで

www.sankyolabo.co.jp